



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE
HIERRO SOLUBLE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault
“cushuro” Y DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Spinacia*
oleracea L “espinaca”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

AUTORES

Bach. GUTIERREZ RONCAL, DORIS MARIELA

<https://orcid.org/0000-0002-4844-3199>

Bach. TARRILLO DELGADO, JANET

<https://orcid.org/0000-0001-6497-2798>

ASESOR

Mg. FLORES LÓPEZ, ÓSCAR BERNUY

<https://orcid.org/0000-0001-9091-2537>

LIMA – PERÚ

2022

DEDICATORIA

A Dios nuestro Señor por haberme brindado sabiduría, salud y fuerza para enfrentar el día a día y por permitirme continuar con mis estudios hasta lograr mis metas trazadas.

A mis padres, Enrique Gutierrez y Justina Roncal quienes depositaron su confianza en mí, apoyándome cada momento con sus sabios consejos e impulsándome a la superación, agradezco a ellos infinitamente por todo lo hermoso que puedo vivir de esta vida.

A mis hermanos por la confianza, la complicidad y sus consejos que comparten conmigo para ser cada día en lo posible un mejor ser humano.

Gutierrez Roncal, Doris Mariela

DEDICATORIA.

A Jehová, por permitir mi existencia, por brindarme cada día sabiduría, por guiar mis pasos por el camino del bien, con él a mi lado puedo superar las barreras que se me presenten a lo largo de mi vida y mi formación profesional, para así con mucha esperanza y fe continuar por el camino de la vida.

A mis padres Gilberto Tarrillo y Andrea Delgado por ser los mejores maestros de mi vida, quienes a lo largo de mi carrera me han ofrecido su apoyo íntegro y económico, por brindarme sus consejos sabios para ser una persona de bien.

A mis hermanos quienes fueron mi motor y motivo para superarme.

Janet Tarrillo Delgado

AGRADECIMIENTO

A Jehová, todo poderoso por bendecirnos la vida, por habernos guiado y cuidado en toda nuestra carrera profesional, por ser el mejor apoyo y maestro de la vida.

A nuestros adorados padres, hermanos y familiares quienes nos brindaron su apoyo y amor incondicional.

A la Universidad María Auxiliadora, por refugiarnos y de esta manera permitirnos profundizar nuestros conocimientos y poder concluir la carrera profesional que siempre hemos soñado.

A nuestro asesor de tesis Mg Q.F Flores López, Oscar Bernuy por compartir con nosotras su valioso tiempo y conocimiento para hacer posible la culminación de este proyecto.

Al Mg. Inocente Camones, Miguel Ángel, quien de manera cortés estuvo involucrado en el proceso de nuestro proyecto.

A la Mg. Q.F. Miriam Sangay, quien estuvo con nosotras apoyándonos constantemente durante el desarrollo del proyecto hasta su ejecución del mismo.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|-----------|
| RESUMEN | 8 |
| ABSTRACT | 9 |
| I. INTRODUCCIÓN. | 10 |
| II. MATERIALES Y MÉTODOS. | 18 |
| II.1 Enfoque y diseño de la investigación. | 18 |
| II.2 Población, muestra y muestreo. | 18 |
| II.3 Variables de investigación. | 20 |
| II.4 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos. | 20 |
| II.5 Plan metodológico para la recolección de datos. | 22 |
| II.6 Procesamiento del análisis estadístico. | 28 |
| II.7 Aspectos éticos. | 29 |
| III. RESULTADOS | 30 |
| IV. DISCUSIÓN | 34 |
| IV.1 Discusión de resultados. | 34 |
| IV.2 Conclusiones | 38 |
| IV.3 Recomendaciones | 39 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. | 40 |
| ANEXOS | 44 |
| ANEXO A: Instrumentos de recolección de datos. | 44 |
| ANEXO B: Matriz de consistencia | 45 |
| ANEXO C: Operacionalización de las variables. | 46 |
| ANEXO D: Clasificación taxonómica | 47 |
| ANEXO E: Evidencias fotográficas del trabajo de campo. | 52 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|-----------------|--|----|
| TABLA 1. | Volumen de alícuotas a medir para la preparación de la curva de calibrado | 25 |
| TABLA 2. | Concentración versus absorbancia para la curva de calibración. | 30 |
| TABLA 3. | Concentración de hierro en de <i>Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault</i> "cushuro" Spinacia oleracea L "espinaca". | 31 |
| TABLA 4. | Pruebas estadísticas descriptivas y ANOVA | 32 |

ÍNDICE DE GRÁFICOS.

| | |
|--|----|
| Gráfico N° 01. Curva de calibración concentración vs Absorbancia | 31 |
| Gráfico N° 02. Comparación de las concentraciones de hierro en de <i>Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault</i> “cushuro” y <i>Spinacia oleracea</i> L "Espinaca" | 32 |

RESUMEN

Objetivos: Cuantificación espectrofotométrica de hierro soluble del extracto etanólico de *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro” y del extracto acuoso de *Spinacia oleracea L* “espinaca” utilizando el método colorimétrico de la orto-fenantrolina el cual obedece a la ley de Lambert y Beer, además comparar las concentraciones de hierro de *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro” y *Spinacia oleracea L* “espinaca”.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio tipo experimental, de nivel cuantitativo, se trabajó por triplicado cada una de las muestras de extracto etanólico de *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro” y extracto acuoso de las hojas de *Espinacea oleracea L* “espinaca”, se realizó la curva de calibración previamente preparada con un patrón estándar, el análisis comparativo se realizó mediante ANOVA y finalmente, se utilizó el programa Excel 2019. **Resultados:** Se determinó la concentración de hierro en *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro” con 9.529 mg/L y *Spinacia oleracea L* “espinaca” 5.614 mg/L. **Conclusión:** Al comparar las medias de las concentraciones de ambas muestras se encontró un valor de $p = 0,000$ ($p < 0,05$), lo que indica que existe diferencia significativa entre dichas concentraciones. Se concluye que la muestra de *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro” tiene mayor concentración de hierro que la de *Espinacea oleracea L* “espinaca”.

Palabras claves: espectrofotometría, extracto acuoso, extracto etanólico, Hierro, cushuro y espinaca.

ABSTRACT

Objectives: Spectrophotometric quantification of soluble iron from the ethanolic extract of *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro” and the aqueous extract of *Spinacia oleracea L* “spinach” using the ortho-phenanthroline colorimetric method which obeys Lambert's law and Beer, in addition to comparing the iron concentrations of *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro” and *Spinacia oleracea L* “spinach”. **Materials and Methods:** An experimental type study was carried out, at a quantitative level, each of the samples of ethanolic extract of *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro” and aqueous extract of the leaves of *Espinacea oleracea L* “spinach” were worked in triplicate, the calibration curve previously prepared with a standard pattern was made, the comparative analysis was carried out using ANOVA and finally, the Excel 2019 program was used. Results: The iron concentration in *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro” (cushuro) was determined. with 9,529 mg/L and *Spinacia oleracea L* “spinach” 5,614 mg/L. **Conclusion:** When comparing the means of the concentrations of both samples, a value of $p = 0.000$ ($p < 0.05$) was found, which indicates that there is a significant difference between said concentrations. It is concluded that the sample of *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro” (has a higher concentration of iron than that of *Espinacea oleracea L* “spinach”).

Keywords: spectrophotometry, aqueous extract, ethanolic extract, iron, cushuro and spinach.

I. INTRODUCCIÓN.

La deficiencia de hierro es la principal causa de anemia, dando como resultado el 50% de las anemias del mundo ¹. Las deficiencias de ácido fólico y otros folatos, vitamina B12 y proteínas pueden también determinar su prevalencia. Otros nutrientes importantes, como el ácido ascórbico (vitamina C), el α tocoferol (vitamina E), la piridoxina (vitamina B6), la riboflavina (vitamina B2) y el cobre son indispensables para la producción de glóbulos rojos y también mantener la estabilidad de los mismos, responsables del transporte de hierro ^{2, 3}. El déficit de vitamina A, también se asocia con la aparición de la anemia por su participación en la movilización del hierro de los tejidos de depósito principalmente el hígado ^{4, 5}. “El síndrome anémico secundario a deficiencia férrica puede ser causa de diferentes factores y en él interviene el estado fisiológico y genético del individuo, así como el aporte de este mineral en la dieta” ^{6, 7}. El principal grupo etario que presenta el problema sanitario que se viene combatiendo día a día es nuestra niñez, puede presentar secuelas que perduren el resto de la vida del individuo ^{8, 6}. “Las consecuencias secundarias negativas a largo plazo tiene que ver principalmente con un desempeño cognitivo deficiente que se presenta a muy temprana edad en la vida y que, por ello, repercute en la adquisición de las capacidades que se van aprendiendo y desarrollando desde sus primeros años de vida. Asimismo, la anemia en la niñez se ha visto asociada a déficit en el rendimiento educativo y capacidad para el trabajo eficiente, pero también con un aumento en los índices de mortalidad y morbilidad debido a enfermedades infecciosas, e incluso término del embarazo en aquellas mujeres que de niñas padecieron de anemia y no fueron tratadas a tiempo” ^{8, 9,10}.

La anemia es la disminución de la masa de eritrocitos de un individuo y se tiene una concentración adecuada según las etapas de vida. “Dentro de los principales minerales para el desarrollo saludable de nuestras células del organismo es el hierro, el déficit de este trae como consecuencia a la anemia ferropénica el cual es un tipo de variante de este problema de salud, la anemia es muy común en todos los estratos sociales de muchos países” ¹¹.

“Según la (OMS) Organización Mundial de la Salud, el déficit de hierro es uno de los problemas nutricionales de gran consideración en el mundo y por ende la causa más frecuente de anemia”^{8, 12}. “Se ha calculado que afecta a 1 de cada 3 pobladores, ambos sexos y a todas las edades, pero es de mayor prevalencia en lactantes, adolescentes, mujeres embarazadas y adultos mayores”¹³. “Se calcula que en el mundo existen 293 millones de niños menores de cinco años que padecen de anemia, representando alrededor del 47%, la anemia es consecuencia principalmente de la deficiencia de hierro y que, si bien se ha reducido en los últimos años, se mantiene como uno de los más importantes problemas de salud pública a nivel nacional y mundial”. La deficiencia de hierro es la causa principal de anemia, dando como resultado el 50% de las anemias del mundo^{14, 1}.

“En el Perú la anemia infantil es uno de los problemas de salud pública con alto índice de morbimortalidad, a pesar de todos los esfuerzos realizados por el Ministerio de Salud (MINSA) en las últimas dos décadas, se mantiene con una elevada prevalencia y con grupos poblacionales expuestos a un mayor riesgo de padecerla, cuyos resultados se evidencian a lo largo de todo el ciclo vital y que afecta especialmente a los pobres o pobres extremos, donde los habitantes, particularmente las madres de familia, arraigadas a sus patrones culturales, creencias y costumbres alimentarias, deciden la forma de criar y alimentar a los niños, sin considerar en la mayoría de los casos a las opciones que brinda el MINSA, exponiéndolos a sufrir con anemia”^{15, 9}. “En el 2019 los mayores niveles de anemia se registraron en la sierra tanto en niñas y niños de 6 a 35 meses de edad en un (48,8%), seguido de la Selva con (44,6%), la Costa con (37,5%) y Lima Metropolitana (30,4%), según informó el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI)”². “La anemia que se presenta en los primeros años de vida de los seres humanos, es la que ha causado bastante inquietud en varios ámbitos y niveles de actores con responsabilidad en la mejora de la salud en nuestro país”^{2, 10}. A raíz de esta problemática que se viene suscitando en nuestro país, es que se debe incentivar el consumo de alimentos, vegetales, algas que contengan alto contenido de hierro para prevenir y tratar los problemas relacionados a la anemia, Perú es un país rico

en vegetación que son motivos de estudio con la finalidad de solucionar o prevenir problemas de salud.

En el presente estudio con la necesidad de reducir los altos porcentajes en los casos de anemia se busca nuevas alternativas, siendo uno de ellos el uso de las plantas medicinales y especies medicinales, incentivando a la vez el consumo de vegetales y/o algas ricas en hierro y otros minerales necesarios para el desarrollo humano, esta práctica remota desde la existencia del ser humano, pero en la actualidad están siendo reemplazados por el consumo de productos sintéticos o químicos que son muy costosos y muchas veces no están al alcance de los bolsillos de la población, a lo largo del tiempo se realizan investigaciones para determinar sus efectos beneficiosos para la salud humana determinándose efectos antioxidantes, antihemolíticos, antianémicos, antiulcerosos, entre otros, a partir del cual se elaboran productos sintéticos^{12,6}

Las plantas medicinales en estos tiempos son una alternativa ante diversos problemas de salud asimismo las algas tales como; ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** se le conoce con el nombre popular de “cushuro” , cuyo significado en quechua es "crespo" no sólo por el aspecto, color y consistencia sino también porque tiene una forma muy particular de aparecer de manera misteriosa tras la lluvia, al inicio forman colonias esféricas que luego se aplanan, son de textura membranosa, coriácea, de color verde oliva, pardo verdoso o amarillento, están envueltas por una capa externa firme y pueden alcanzar varios centímetros ^{14,6,16}. “Es la especie que más resalta y abunda en las zonas alto andinas de Perú, Bolivia y Ecuador. En su interior son hialinas, es decir tienen una estructura transparente” ^{17,18}. Es un alimento accesible para la población andina, porque se encuentra a disponibilidad de los pobladores y su uso data desde hace mucho tiempo proporcionando una buena cantidad de nutrientes principalmente hierro y otros nutrientes beneficiosos para el desarrollo humano ^{8,19}.

Según el reportaje de Janet Mori (2018), para el programa Al Sexto Día de Panamericana Televisión, el cual puede ser visto a través del siguiente link <https://panamericana.pe/alsextodia/locales/252108-cushuro-alimento-futuro>.

En este reportaje, se da a conocer el consumo de un alga milagrosa llamada

“cushuro” y es denominada como el “alimento del futuro” gracias a las grandes propiedades nutritivas que posee. Con este alimento se puede combatir la anemia y la desnutrición, además, es una fuente rica en hierro y calcio. El sabor del cushuro es insípido, es decir, puede integrarse en cualquier preparación dulce o salada sin alterar el gusto de ellas y es accesible al público.

La espinaca *Spinacea oleracea L* es un vegetal bajo en calorías, con bajo contenido de grasas, relativamente bajo en proteínas y buen aportador de fibra y micronutrientes como vitamina C, vitamina A y minerales, especialmente hierro”¹⁴. “La espinaca fresca puede cosecharse en los meses de invierno y primavera, su cultivo resiste bajas temperaturas, aunque con menor rendimiento y es perjudicada por las lluvias intensas”^{7, 20}. se debe incentivar el consumo de *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro” para prevenir la anemia ya que en este estudio se demuestra que tienen un alto contenido de Hierro, siendo el más resaltante el Cushuro tal, como demuestra el estudio realizado por Alegre (2019) en el cual concluye que *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro” tiene un alto contenido de hierro que son muy indispensables para combatir los grandes problemas sanitarios como: anemia, y desnutrición, que hoy en día va en incremento, el mismo que crece en las zonas donde más se requiere y está a disposición sin costo alguno de esta población vulnerable, pero por desconocimiento no es consumido. Se puede incentivar el consumo en la prevención de anemia mediante charlas que den a conocer el alto contenido de hierro, o mediante la elaboración de productos como galletas, panetones, cereales que puedan ser accesibles a la comunidad.

Víctor J (2017), en su investigación titulada “elaboración y control de calidad de pan enriquecido con fibra de cutícula de tomate (*Solanum lycopersicum*) y espinaca (*Spinacia oleracea*)”. Se encontró los siguientes nutrientes en la espinaca (*Spinacia oleracea*) hierro, proteínas, calcio, fibra, potasio, yodo, zinc, magnesio, sodio, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B3, vitamina B5, vitamina B6, vitamina B7, vitamina E, fósforo y purinas. “Elevado contenido de ácido fólico o vitamina B9 de las espinacas, hace de este un alimento muy recomendable para su consumo en etapas de embarazo o de lactancia. Tiene

gran concentración de vitamina C que es indispensable para la asimilación del hierro que se encuentra en esta verdura en una cantidad igual a 2,71 mg por cada 100 g, proporción mayor a la de la carne motivo por el cual el zumo de espinaca se recomienda en la anemia ferropénica. La calidad nutricional de la espinaca (*Spinacia oleracea*) también reside en la riqueza mineral y vitamínica que brinda por cada 100 gramos, por eso se aconseja a deportistas y adolescentes en fase de crecimiento”²¹

Silva Y, et al (2016), estudiaron la “Cuantificación de hierro total en las hojas de espinaca (*Basella alba*) por espectrofotometría ultravioleta/visible, laboratorio de análisis físico químico de alimentos departamento de química, UNAN Managua, enero-diciembre, 2015”. “La cuantificación se realizó a tres lotes de espinaca provenientes de los municipios de San Juan de Oriente (lote-MTSJ) y Catarina (lote-MCTR1, MCTR2) obteniendo un total de 58 muestras”. “Los resultados obtenidos son: en el primer lote la concentración promedio es de 3,20 mg Fe/100 g de espinaca, en el segundo lote se obtiene una media de 1,97 mg Fe/100 g de espinaca y para el tercero 2,92 mg Fe/100 g de espinaca.” “Para adultos se estima la masa bruta de espinaca en peso seco 0,44 kg cada 24 horas, gestantes de 0,88 kg de peso seco cada 24 horas, esto para la población de San Juan de Oriente y para la población de Catarina en adultos es de 0,53 kg de peso seco cada 24 horas y gestantes 1,06 kg de peso seco cada 24 horas”²⁰.

Chilón N, et al (2020) sobre “cuantificación de hierro en los extractos de *Beta vulgaris* “acelga” y *Spinacia oleracea* “espinaca” para incentivar su consumo en la prevención de anemia, tuvo como objetivo general determinar la concentración de hierro en los extractos de *Beta vulgaris* “acelga” y *Spinacia oleracea* “espinaca” para incentivar su consumo en la prevención de anemia. “Se obtuvo como resultado la concentración promedio de hierro en acelga fue de 1,57 mg Fe/100g, con una desviación estándar de 3,25 mg Fe/100g; y de espinaca fue de 3,57 mg Fe/100g, con una desviación estándar de 1,91 mg Fe/100g”¹².

Asimismo, el estudio de Alegre R (2019), con su tesis “Contenido de proteínas, hierro y calcio de *Nostoc sphaericum* “cushuro” recolectado de la Laguna de

Conococha, Catac – Huaraz, cuyo objetivo fue determinar el contenido de proteínas, hierro y calcio en muestra seca de *Nostoc sphaericum* “cushuro” muestra recolectada de la laguna de Conococha, distrito de Catac, provincia de Huaraz, departamento de Ancash. Sus resultados los analizó utilizando el programa Excel 2016, utilizando el promedio y la desviación estándar como parámetros estadísticos descriptivos”. “Para determinar el contenido de proteínas presentes en *Nostoc sphaericum* “cushuro” pulverizado utilizó el método Kjeldahl, encontrándose un $26.68 \pm 0.01\%$, para la determinación de hierro utilizó el método colorimétrico que se fundamenta en reacciones con ortoferantrolina, en las que encontró 15.72 ± 2.07 mg/100g de muestra seca y para determinar la concentración de calcio utilizó el método de complexometría por titulación con ácido etilendiamino tetraacético (EDTA), obteniendo como resultado 1260.13 ± 35.80 mg de Ca/100g de cushuro deshidratado”. “En su estudio concluye que *Nostoc sphaericum* “cushuro” deshidratado es adecuado en la dieta por tener gran cantidad de proteínas, hierro y calcio que son muy indispensables para combatir los grandes problemas sanitarios como: anemia, desnutrición y osteoporosis que hoy por hoy va en incremento”⁷.

Villavicencio M (2017), en su estudio intitulado “Efectos nutritivos del *Nostoc* “cushuro” en los niños desnutridos de 1 a 3 años del distrito de Amarillis-2017 tuvo como objetivo determinar el grado de eficacia del *Nostoc sp*, en los niños de 1 a 3 años del Distrito de Amarillis 2007, provincia y departamento de Huánuco”. “La investigación fue tipo experimental o de intervención, longitudinal y prospectivo; la muestra estuvo conformada por 20 niños de 1 a 3 años, divididos en dos grupos; experimental y de control, para la recolección de información utilizó un formulario estructurado, tablas de Waterlow mediante ello evaluó el estado nutricional de la muestra”. “Los resultados que obtuvo fueron significativos, la alimentación complementaria a base de *Nostoc* mejoró el estado nutricional de los niños, siendo el valor de $t = 3,096$ estadística calculada, y cuyo nivel de significancia para su estudio fue de 0,05. “Así mismo cabe resaltar que antes del estudio los niños de 1 año de edad presentaban el 5% de desnutrición leve y después en 5% de niños de esta edad su estado nutricional es normal”. “En los niños de 2 años de edad antes el 25% con

desnutrición leve y después, en 15% de niños su estado nutricional normal y el 5% estaba en sobrepeso”. “En los niños de 3 años de edad antes el 20% presentaba desnutrición leve y después, en 15% su estado nutricional es normal”. Se concluye que *Nostoc* ayuda a mejorar las condiciones nutricionales por su alto contenido de nutrientes y minerales²².

El departamento de Cajamarca es una zona con gran variedad de vegetación y especies medicinales tal es así la presencia de ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro” que se encuentra en las lagunas de nuestro valle y no son aprovechadas por la población debido al desconocimiento de sus beneficios^{18, 23}.

Ante esta realidad se planteó como objetivo general: Cuantificar la concentración de hierro soluble en el extracto etanólico de ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro” y en el extracto acuoso de ***Spinacia oleracea L*** “espinaca”

Como solución a los problemas formulados se planteó la siguiente hipótesis general: Se logra cuantificar el hierro soluble en el extracto etanólico de ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro” y en el extracto acuoso de ***Spinacia oleracea L*** “espinaca”.

II. MATERIALES Y MÉTODOS.

II.1 Enfoque y diseño de la investigación.

El presente estudio fue de enfoque cuantitativo debido a que los resultados son cantidades de un producto obtenido, con diseño experimental, se comparó los resultados obtenidos cuyas variables son manipuladas en condiciones controladas.

El tipo de estudio fue prospectivo longitudinal porque la información se recogió, de acuerdo con los criterios del investigador y para los fines específicos de la investigación, después de la planeación de ésta, en el cual se medirán las variables en el tiempo. Por eso se entiende la comparación de dos variables en diferentes ocasiones.

II.2 Población, muestra y muestreo.

Población

Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault “cushuro” 4 kg de los alrededores de la laguna San Nicolás del distrito de Namora provincia de Cajamarca y de ***Spinacia oleracea L*** “espinaca” 3 kilos del Distrito de Jesús de la provincia de Cajamarca.

Muestra

Se utilizó 2 kilos plantas de ***Spinacia oleracea L*** “espinaca” del distrito de Jesús provincia de Cajamarca y 2 kg de ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro” recolectadas de los alrededores de la laguna San Nicolás del distrito de Namora, provincia Cajamarca.

Muestreo

“Muestreo no probabilístico aleatorio, técnica en la cual se selecciona las muestras basadas en los criterios de inclusión y criterios de exclusión y no al azar”.

Criterios de Inclusión

- ☐ Las hojas de ***Spinacia oleracea* L** “espinaca” y algas ***Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault** “cushuro” que tenían características organolépticas muy similares.
- ☐ Las hojas de ***Spinacia oleracea* L** “espinaca” y algas ***Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault** “cushuro” que se encontraron en buen estado y libre de microorganismos.
- ☐ Las hojas de ***Spinacia oleracea* L** “espinaca” y algas ***Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault** “cushuro” que se recolectaron por igual, es decir en el mismo tiempo, lugar y hora.
- ☐ Las hojas de ***Spinacia oleracea* L** “espinaca” y algas ***Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault** “cushuro” aptos para investigar.

Criterios de exclusión

- ☐ Las hojas de ***Spinacia oleracea* L** “espinaca” y algas ***Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault** “cushuro” que no tenían características características organolépticas similares.
- ☐ Las hojas de ***Spinacia oleracea* L** “espinaca” y algas ***Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault** “cushuro” (cushuro) que no se encontraron en buen estado y tengan presencia de microorganismos.
- ☐ Las hojas de ***Spinacia oleracea* L** “espinaca” y algas ***Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault** “cushuro” que no se recolectaron en el mismo tiempo, lugar y hora.

II.3 Variables de investigación.

Variable independiente: cuantificación de hierro soluble.

Definición conceptual: El hierro se considera, por tanto, un elemento fundamental en el desarrollo del niño, con el fin de que todas sus capacidades se desarrollen sin ningún tipo de problema.

Definición operacional: Se precisó mediante el método de la espectrofotometría.

Variable Dependiente: extracto etanólico de *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro”y extracto acuoso de *spinacia oleracea L* “espinaca”.

Definición conceptual: *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro”.tipo de alga muy frecuente en lagos, lagunas de la sierra con propiedades medicinales. La espinaca es un vegetal rico en hierro, vitaminas y minerales

Definición operacional: concentración del extracto acuoso de *spinacia oleracea L* “espinaca” y concentración del extracto etanólico de *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro”.

II.4 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.

“Los investigadores armaron una ficha de datos para plasmar los resultados considerando las diferentes concentraciones del extracto acuoso de las hojas de *Spinacia oleracea L*”espinaca” y el extracto etanólico de las algas de *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro”.el cual, a través de la espectrofotometría, el método colorimétrico y la utilización de un patrón y un blanco se determinará la cantidad de hierro en las muestras”.

De acuerdo con la técnica de contrastación:

La investigación fue experimental y comparativa, porque se describió, registró lo observado en un ámbito controlado de manera tal de poder medir, observar y realizar los fenómenos experimentales y poder así comprender sus causas y consecuencias minimizando las variables desconocidas. Se desarrolló en el laboratorio ATIPAQ Perú.

INSTRUMENTOS

Como instrumento eléctrico se utilizó el espectrofotómetro Modelo S-1200-Genesys en el cual se midió a 510 nanómetros luego se calculó la concentración de Fe total en mg/L (ppm) de la solución usando los datos de la curva de calibración.

EQUIPOS

- Espectrómetro, Modelo S-1200-Genesys.
- Balanza analítica, Modelo ARO640.
- Estufa
- pH-metro

REACTIVOS:

- Acetato anhidro CH_3COONa
- Ácido acético glacial concentrado
- Hidroxilamina
- $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Hierro)
- HCl concentrado
- Etanol 96°
- Agua destilada
- Ortofenantrolina

MATERIALES:

- Papel filtro Whatman N°4 y papel Whatman N°2
- 04 matraz Erlenmeyer 200 ml
- 02 mortero más pilón
- 04 fiolas de 100ml

- 05 frasco de vidrio color ambar
- 04 fioles de 250 ml
- 12 fioles de 100 ml
- 02 fioles de 500 ml
- Pipetas de 1ml, 5 ml, 10 ml y 20 ml 3 de cada una.

II.5 Plan metodológico para la recolección de datos.

Recolección de la muestra vegetal.

A. *Spinacia oleracea* L “Espinaca”

La espinaca se recolectó en el distrito de Jesús provincia de Cajamarca ubicada a una altitud de 2,564 m.s.n.m., en el mes de setiembre del 2021, 3 kg de espinaca. Se procedió a sacar el peciolo de cada hoja separándolas del tallo, utilizando guantes estériles y tijera de acero. La muestra se transportó en una canasta al Laboratorio ATIPAQ Perú, donde se realizó la selección del material vegetal ¹².

B. *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault “cushuro”.

Se recolectó 4 kilogramos de de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault “cushuro” en setiembre del 2021 de los alrededores de la laguna San Nicolás, ubicada a 30 kilómetros de la ciudad de Cajamarca ubicada a una altitud 2,743 msnm. Luego se trasladó las muestras en un cooler hasta el Laboratorio ATIPAQ Perú.¹².

Preparación de las muestras.

A. *Spinacia oleracea* L “Espinaca”

Se realizó un primer lavado con agua potable seguido de una desinfección con hipoclorito de sodio al 0,05%”, seguido se realizó un lavado con agua destilada para eliminar los residuos de hipoclorito de sodio y se guardó en bolsas de papel. Luego se colocó las hojas al aire libre y bajo sombra por 15

días. Posteriormente se estabilizó la muestra en estufa a 40°C por 12 h. para completar su secado, finalmente se procedió a triturar en un mortero y se almacenó en un frasco de vidrio de boca ancha ^{12, 18}.

B. *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault “cushuro”.

“Las muestras de de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault “cushuro”.se seleccionaron, separando las sustancias extrañas (pajas, piedras) y algas rotas. Luego se lavaron con agua potable, seguido de una desinfección utilizando hipoclorito de sodio a una concentración 0,05%” durante 1 minuto”. “Posteriormente se enjuagó con abundante agua destilada estéril, esto es para retirar los residuos de hipoclorito”, como último paso se hizo a temperatura ambiente un proceso de oreado en un colador y luego se llevó a secar en estufa a 40 °C hasta obtener un peso constante.

Preparación del extracto

A. *Spinacia olerácea* L “espinaca”

“El polvo seco (25 g) se mezcló con agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 150 ml y se agitó 3 veces al día por un periodo de dos días” ¹².

“Se procedió a filtrar con papel filtro Whatman N°4 y por último en papel Whatman N°2, para obtener el extracto acuoso” ¹²

**B. *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault
“cushuro”.**

“Las muestras secas se trituraron en un mortero y luego se pasaron a través del tamiz N° 0.7. De estas muestras se pesó una porción de 25 g por separado y luego se vertió en un matraz, se le añadió 150 mL de etanol a 96° para su extracción por maceración por 7 días. El producto se filtró con papel filtro Whatman N°4 y por último en papel Whatman N°2. Finalmente se obtuvo un extracto purificado libre de gérmenes”¹².

Preparación de las soluciones

a. orto-fenantrolina 0,1%

“Se pesó en la balanza analítica 0,1 g de o-fenantrolina se trasvasó a una fiola de 100 ml; se agregó 80 mL de H₂O destilada a 80°C ± 5°C, se dejó enfriar y se aforó a 100 mL. Se guardó en un frasco de vidrio color ámbar bajo refrigeración”. Esta solución puede durar varias semanas. “Desechar si la solución se vuelve ligeramente rosada, lo que indica que se ha contaminado con hierro”^{12, 14}.

b. Solución buffer de acetato de sodio/ácido acético, pH 4,3

“Se pesó en la balanza analítica 20,75 g de acetato anhidro CH₃COONa se trasvasó a una fiola de 250 mL se agregó 20 mL de agua destilada, luego se agitó hasta disolver completamente, luego se agregó 30 mL de ácido acético glacial concentrado y se aforó; finalmente se trasvasó a un frasco de color ámbar”^{12, 18}.

c. Clorhidrato de hidroxilamina 10 % (m/v)

“Se pesó en la balanza analítica 10 g de clorhidrato de hidroxilamina y trasvasó a una fiola de 100 mL, se

agregó 20 mL de agua destilada y se agitó hasta disolver, luego se aforó a 100 mL, y trasvasó a un frasco de vidrio de color ámbar” ¹².

d. Solución estándar primaria de hierro 1000 ppm.

“Se pesó en la balanza analítica 3,5120 g de Fe (NH₄)₂(SO₄)₂•6H₂O y se trasvasó a una fiola de 500 mL, se agregó 20 mL de agua destilada, se agitó y añadió 2 mL de HCl concentrado y se aforó; se trasvasó a un frasco de vidrio de color ámbar para ser utilizado posteriormente” ¹².

“Preparación de la curva de calibración a partir de estándares externos de concentración conocida de hierro”.

TABLA 1. **Volumen de las Alícuotas que medir para la preparación de la curva de calibrado.**

| Concentración Fe (mg/L) | Alícuotas a medir de la solución estándar de trabajo a 1000 ppm (mL) |
|-------------------------|--|
| 0.2 | 0.2 |
| 0.4 | 0.4 |
| 0.6 | 0.6 |
| 0.8 | 0.8 |
| 1.0 | 1.0 |
| 1.2 | 1.2 |
| 1.4 | 1.4 |

1. “Se preparó siete estándares de trabajo de hierro, en el que se medirá alícuotas de la solución estándar de trabajo de hierro a 1000 ppm, según la tabla y se trasvasarán a fiolas de 100 mL”.

2. Se añadió a cada uno de las fioles 2 mL de ácido clorhídrico concentrado”, “luego se añadió 1 mL de solución de clorhidrato de hidroxilamina al 10%, se esperó por un tiempo de 5 minutos.
3. Se ajustó el pH de cada una de las soluciones a valores de 3,01 luego se agregó 5 mL de la solución buffer de acetato de sodio/ácido acético glacial
4. Seguidamente se agregó a cada fiola 6 mL de solución orto-fenantrolina al 1%, se aforó con agua destilada y agitó completamente (Este punto se realizó midiendo el tiempo de la adición de la orto-fenantrolina una vez que se aforaba cada matraz en intervalos de 1,50 min) ¹²
5. “Posteriormente se procedió a leer en el espectrofotómetro la absorbancia del estándar cero y de cada estándar de concentración conocida de hierro a una longitud de onda de 510 nanómetros”. “La primera lectura se realizó 3 minutos después de la formación del complejo de la orto-fenantrolina y así sucesivamente en intervalos de 1,50 minutos hasta completar 30 minutos desde la adición de la orto-fenantrolina ^{12,}

14

Determinación de hierro total por el método colorimétrico de la ortofenantrolina, en muestras control y blancos de análisis.

Se tomaron las siguientes alícuotas de las muestras obtenidas:

1. Para las muestras controles se midió 15 mL del patrón primario, para el blanco de análisis se midió 15 mL de agua destilada con una pipeta de 20 mL y se trasvasó a fioles de 100 mL.
- 2 Para la muestra de **Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault** “cushuro”.y la muestra de **Spinacia**

oleracea L “espinaca” se midió 10 mL de cada muestra y se trasvasó a una fiola de 100 mL.

3. Se agregó 2 ml de solución de HCl concentrado a cada una de las fiolas.

4. Posteriormente se agregó a cada una de las fiolas 1 mL de la solución clorhidrato de hidroxilamina al 10%, se agitó vigorosamente tres veces la fiola y se dejó reposar durante 5 minutos

5. Se añadió a cada uno de las fiolas 5 mL de la solución buffer de acetato de sodio/ácido acético glacial, ajustándolos a un pH de 3,01 con la ayuda de un pH metro”.

6. Se agregó a cada uno de las fiolas 6 mL de la solución ortofenantrolina al 0,1%, y se aforó con agua destilada, luego se invirtió tres veces y se dejó reposar por 30 minutos tiempo que se obtuvo la máxima coloración del complejo ferroína.

7. Se procedió a encender previamente el espectrofotómetro mientras alcanza sus parámetros óptimos.

8. Se ajustó la línea base del usuario por medio de la lectura del solvente que se utiliza en todo el análisis.

9. Luego se realizó las lecturas de los blancos de análisis, muestras control y muestras ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro”.y ***Spinacia oleracea L*** “espinaca” en el espectrofotómetro UV/Vis 510 nanómetros por triplicado.

10. Se calculó la concentración de Fe total en mg/L (ppm) de la solución utilizando los datos de la curva de calibrado.

II.6 Procesamiento del análisis estadístico.

Para el análisis estadístico se utilizó Excel 2019, además el programa SSPS (Statistical Package for the Social Sciences) que facilitó la determinación de la media aritmética y la desviación estándar de las variables cuantitativas a los cuales se realizó la comparación entre los valores de absorbancias utilizando ANOVA que permitió comparar los grupos analizados ^{20, 24}.

Se utilizó los siguientes valores para la interpretación de p:

- Si $p > 0,05$; la diferencia no es significativa, IC = 95%.
- Si $p \leq 0,05$; la diferencia es significativa, IC = 95%.

Enfoque y diseño de la investigación

El presente estudio es de enfoque cuantitativo debido a que los resultados son cantidades de un producto obtenido, con diseño experimental, se trata de comparar los resultados obtenidos cuyas variables son manipuladas en condiciones controladas.

El tipo de estudio es prospectivo longitudinal porque la información se recogió, de acuerdo con los criterios del investigador y para los fines específicos de la investigación, después de la planeación de ésta, en el cual se midieron las variables en el tiempo. Por eso se entiende la comparación de dos variables en diferentes ocasiones.

II.7 Aspectos éticos.

En la realización del siguiente trabajo de investigación se cumplió con el Proyecto de Ley N°. 2941/97-CR, respetando todas las normas, códigos éticos y morales de los seres humanos y de la naturaleza y apoyar la investigación de nuevas especies de plantas con propiedades medicinales. En la presente tesis no se causó daño a la naturaleza, animales y mucho menos a la humanidad, por el contrario, se intenta contribuir en el desarrollo del Distrito de Namora y Jesús ayudando a mejorar los índices de anemia dando a conocer que no es necesario el gasto de bolsillo para combatir estos problemas sanitarios ^{12, 13}.

III. RESULTADOS

TABLA 2. **Concentración versus absorbancia para la curva de calibración.**

| Concentración Fe (mg/L) | Absorbancias |
|-------------------------|--------------|
| 0.2 | 0.035 |
| 0.4 | 0.068 |
| 0.6 | 0.115 |
| 0.8 | 0.156 |
| 1.0 | 0.185 |
| 1.2 | 0.226 |
| 1.4 | 0.266 |

Ecuación de la recta

$$Y = mx + b$$

$$Y = 0.1982X - 0.0074$$

Coefficiente de correlación 0.998365

El coeficiente de correlación permite medir el grado de asociación de las 2 variables cuantitativas; mientras más se aproxime a 1, es más perfecta la correlación entre las variables.

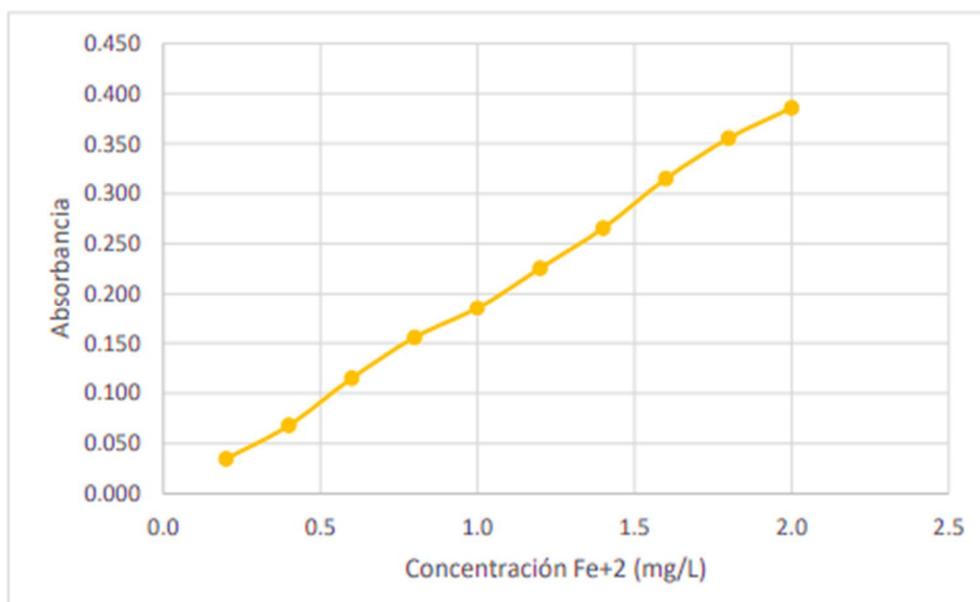


Gráfico 1. Curva de calibración concentración de hierro (mg/l) vs Absorbancia

TABLA 3. Concentración de hierro en y *Nostoc sphaericum* Vaucher ex *Bornet & Flahault* “cushuro”. *Spinacia oleracea* L “espinaca”.

| Muestra | Abs 1 | Abs 2 | Abs 3 | Absorbancia promedio | Concentración (mg/L)* |
|--------------------------|--------------|--------------|--------------|-----------------------------|------------------------------|
| Cushuro (25g/150 mL) | 1.873 | 1.882 | 1.889 | 1.881 | 9.529 |
| Espinaca (25g/150 mL) | 1.106 | 1.102 | 1.108 | 1.105 | 5.614 |

* Aplicando la ecuación de la recta obtenida de la curva de calibración de hierro ($Y = 0.1982X - 0.0074$)

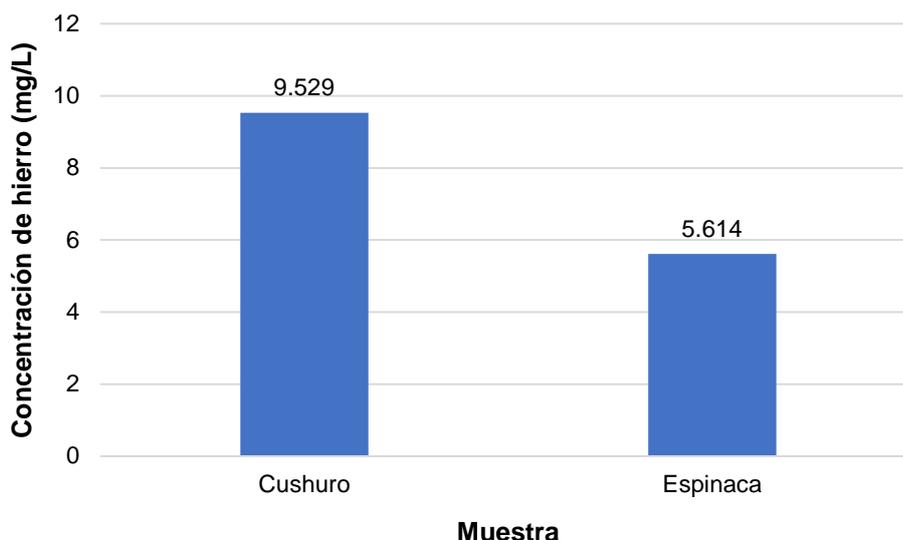


Gráfico N° 02. Comparación de las concentraciones de hierro *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro”. y *Spinacia oleracea* L “Espinaca”.

TABLA 4. Pruebas estadísticas descriptivas y ANOVA de las comparaciones de concentración de hierro en *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro”. y *Spinacia oleracea* L “Espinaca”.

| | N | Media | Desviación estándar | 95% del intervalo de confianza para la media | |
|-----------------|---|----------|---------------------|--|-----------------|
| | | | | Límite inferior | Límite superior |
| Cushuro | 3 | 9,529433 | 0,0404552 | 9,428937 | 9,629930 |
| Espinaca | 3 | 5,614200 | 0,0153844 | 5,575983 | 5,652417 |
| Total | 6 | 7,571817 | 2,1446363 | 5,321159 | 9,822474 |

Interpretación: “En la tabla 04, se puede observar que la concentración media de Hierro (mg Fe/100g) de cushuro del Distrito de Namora es de 9.529 mg Fe/100g, con una desviación estándar de 0,04 mg Fe/100g. Adicionalmente, se observa,

que la concentración media de Hierro en espinaca del distrito de Jesús es de 5.614 mg Fe/100g, con una desviación estándar de 0,01 mg Fe/100g.

ANOVA

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|-------------------------|-------------------|----|------------------|-----------|--------------|
| Entre grupos | 22,994 | 1 | 22,994 | 24548,697 | 0,000 |
| Dentro de grupos | 0,004 | 4 | 0,001 | | |
| Total | 22,997 | 5 | | | |

Interpretación: Al comparar las medias de las concentraciones de ambas muestras se encontró un valor de $p = 0,000$ ($p \leq 0,05$), lo que indica que existe diferencia significativa entre dichas concentraciones. Se concluye que la muestra de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault “cushuro”. mayor concentración de hierro que la de *Spinacia oleracea* L “espinaca”.

IV. DISCUSIÓN

IV.1 Discusión de resultados.

Hoy en día el hierro es vital en nuestra dieta diaria ya que es un nutriente esencial, vital para el buen funcionamiento de nuestro organismo. “La deficiencia nutricional de ciertos minerales como el hierro afecta a la población a escala mundial con graves efectos sobre la salud dependiendo fundamentalmente del grado de incidencia y el tipo de anemia. La ***Spinacia oleracea* L** “espinaca” y el ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro”.son las principales especies vegetales con alta concentración de hierro biodisponible, lo que llevó a esta tesis a estudiar este mineral que forman parte de la dieta diaria del poblador Cajamarquino. En el desarrollo de los avances tecnológicos, de la cuantificación de los minerales que intervienen en los alimentos es esencial, allí la aplicación de la química analítica que juega un papel importante, ya que sus métodos generan resultados muy exactos y de una manera práctica.

En la tabla y gráfico 01 se tiene las concentraciones y absorbancias obtenidos de una muestra conocida de hierro para así calcular la concentración de hierro en las muestras de ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro”.y ***Spinacia oleracea* L** “espinaca”, esta tabla es necesaria para toda determinación de concentraciones en muestras y debe ser elaborada para cada estudio de determinación de algún principio activo que se determine utilizando el método de espectrofotometría, es necesario para determinar la ecuación de la recta para calcular así el coeficiente de correlación = 0.998, que permite medir el grado de

asociación de las 2 variables cuantitativas; mientras más se aproxime a 1, es más perfecta la correlación entre las variables, resultados similares encontró Villavicencio M (2017) en su estudio, Efectos nutritivos del *Nostoc sphaericum* “cushuro”.en los niños desnutridos de 1a 3 años del distrito de Amarills-2017 en el cual se encontró un coeficiente de correlación de 0.5 valor que ha permitido medir el grado de asociación de las 2 variables de estudio, determinando así que *Nostoc* “cushuro”.es una alga con alto contenido en hierro el cual mejor el estado nutricional de la población de estudio.

En la tabla 02 tenemos la concentración de hierro de las muestras de *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro”.9.529 mg/L y *Spinacia oleracea* L (espinaca)= 5.614mg/L, cuyos resultados se trabajaron por triplicado y estos demuestran que hay gran concentración de hierro en *Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault* “cushuro”.comparado con la concentración de *Spinacia oleracea* L “espinaca” que es uno de los vegetales con gran contenido de hierro sin embargo hoy en día se está dando gran importancia a las algas que son especies que están en estudio en los cuales se está encontrando gran cantidad de diferentes principios activos beneficiosos para la mejora de la salud, similar hallazgo encontró Alegre R (2019), con su tesis “Contenido de proteínas, hierro y calcio de *Nostoc sphaericum*“cushuro”.procedente de la Laguna de Conococha, Catac – Huaraz para la determinación de hierro utilizó el método colorimétrico que se basa en reacciones con ortoferantrolina, encontrando 15.72 ± 2.07 mg/100g de hierro en muestra seca, las diferentes concentraciones puede deberse al hábitat, tipo de suelo, altitud donde crece el *Nostoc sphaericum* “cushuro”.Silva Y, et al (2016), estudiaron la “Cuantificación de hierro total en las hojas de espinaca (*Basella alba*) por espectrofotometría ultravioleta/visible, laboratorio de análisis físico químico de alimentos departamento de

química, UNAN Managua, enero-diciembre, 2015". Los resultados obtenidos son: en el primer lote la concentración promedio es de 3,20 mg Fe/100 g de espinaca, en el segundo lote se obtiene una media de 1,97 mg Fe/100 g de espinaca y para el tercero 2,92 mg Fe/100 g de espinaca. La diferencia significativa de las concentraciones de hierro en la espinaca se debe al tipo de suelo, clima, estación para definir la concentración de hierro en espinaca (*Basella alba*), estos estudios demuestran que en las tierras de la sierra del Perú son ricas en minerales para el crecimiento de la espinaca por lo tanto se obtiene altas concentraciones, en comparación a otros países vivimos en un país rico en vegetación.

En la tabla 02 se tiene que la concentración media de Hierro (mg Fe/100g) de ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** "cushuro". del Distrito de Namora es de 9.529 mg Fe/100g, con una desviación estándar de 0,04 mg Fe/100g. Además, se observa, que la concentración media de Hierro en espinaca del distrito de Jesús es de 5.614 mg Fe/100g, con una desviación estándar de 0,01 mg Fe/100g.

El análisis ANOVA permitió además sustentar que existe diferencia significativa al comparar las medias de las concentraciones de ambas muestras se encontró un valor de $p = 0,000$ ($p \leq 0,05$), lo que indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre dichas concentraciones. Se concluye que la muestra de ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** "cushuro". tiene mayor concentración de hierro que la de ***Spinacia oleracea L*** "espinaca".

Los resultados obtenidos en este estudio al ser aplicados para incentivar su consumo en la prevención de anemia en niños con deficiencia de hierro lo cual mejoraría considerablemente su condición de salud como encontró Villavicencio M (2017) en su estudio, los resultados que obtuvo fueron significativos, debido a

que determinó que la alimentación complementaria a base de *Nostoc* mejoró el estado nutricional de los niños, siendo el valor de $t = 3,096$ estadística calculada, y cuyo nivel de significancia para su estudio fue de 0,05. Así mismo cabe resaltar que antes del estudio los niños de 1 año de edad presentaban el 5% de desnutrición leve y después en 5% de niños de esta edad su estado nutricional es normal en los niños de 2 años de edad antes el 25% con desnutrición leve y después, en 15% de niños su estado nutricional normal y el 5% estaba en sobrepeso. En los niños de 3 años de edad antes el 20% presentaba desnutrición leve y después, en 15% su estado nutricional es normal. Se concluye que *Nostoc* ayuda a mejorar las condiciones nutricionales por su alto contenido de nutrientes y minerales, con estos resultados se lograría mejorar la condición de salud de los niños menores de 5 años ya que en nuestro país quienes tienen estos problemas de salud son la población pobre y extremadamente pobre, agregado a esto es la falta de economía para adquirir suplementos vitamínicos en una farmacia o botica, es así que con este estudio se daría una alternativa económica y al alcance de la población para mejorar estas condiciones de salud actuales y evitar futuras secuelas que puedan presentarse por la dificultad de este mineral tan importante para el desarrollo del ser vivo en diferentes etapas.

IV.2 Conclusiones

- ☐ Se logró cuantificar el hierro soluble presente en ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro”. utilizando el método colorimétrico de la orto-fenantrolina el cual se basa en la ley de Lambert y Beer, encontrándose un valor de 9.529 mg Fe/100g.
- ☐ Se logró cuantificar el hierro soluble presente en ***Spinacia oleracea*** L “espinaca” utilizando el método colorimétrico de la orto-fenantrolina el cual se basa en la ley de Lambert y Beer, encontrándose un valor de 5.614 mg Fe/100g.
- ☐ Se comparó las concentraciones de hierro soluble de ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro”. y ***Spinacia oleracea*** “espinaca” para incentivar su consumo en la prevención de anemia. Donde se encontró que el cushuro tiene mayor concentración de hierro encontrándose un valor de 9.529mg Fe/100g y 5.614 Fe/100g para el caso de espinaca, con una diferencia estadísticamente significativa de $p = 0,000$ ($p \leq 0,05$), lo que indica que existe diferencia considerable entre dichas concentraciones.

IV.3 Recomendaciones

- ☐ Elaborar un producto a base ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro”.en peso seco y posteriormente realizar estudios in vivo en los que se pueda observar el porcentaje de aumento de hierro en las personas que padezcan anemia ferropénica.
- ☐ Realizar estudios con otro tipo de extracto de ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro”.de diferentes lugares con la finalidad de determinar si existe alguna variación en la concentración de hierro.
- ☐ Presentar nuevos proyectos para el crecimiento de ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro”.sin necesidad de lluvia lo que es indispensable hoy por hoy, siendo la posibilidad de siembra en lagunas.
- ☐ Elaborar productos como galletas a base de ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro”. para tratar y prevenir la anemia en la población vulnerable.
- ☐ Realizar charlas de capacitación a la población que habita en las zonas de crecimiento de ***Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault*** “cushuro” y al resto de la población sobre los beneficios y el alto contenido del hierro que contienen e incentivar su consumo para el tratamiento de la anemia

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Ruiz G, Picó B, Rosich G y Morales L. El factor alimentario en la presencia de la deficiencia de hierro. *Revista Cubana de Medicina General e Integral* 2002;18 (1):46-52.
2. Chuquilín R. Estudio de la biosorción de cd (II) y pb (II), usando como adsorbente el *Nostoc* (nostoc sp.). [Tesis post grado], Huancayo – Perú. Universidad Nacional del Centro del Perú. 2015. Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/4610/Chuquilin%20Goicochea.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
3. Martínez C, Ros G, Periago J y López G. Biodisponibilidad del hierro en los alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 1999;49 (2):106-113
4. Medina A. Análisis Proximal y Análisis Microbiológico de una muestra de la Cianobacteria *Nostoc* sp., recolectada en el páramo de Papallacta, enero 2017. [Tesis de pregrado]. Universidad Central del Ecuador. 2017. Disponible en: <https://repositorio.unan.edu.ni/1395/1/75006.pdf>
5. Alegre R. Contenido de proteínas, hierro y calcio de *Nostoc sphaericum* “Cushuro” procedente de la Laguna de Conococha, Catac - Huaraz. [Tesis de pregrado]. Perú. Universidad Cesar Vallejo 2019. Disponible en: https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/40357/Alegre_CRE.pdf?sequence=5&isAllowed=y
6. Patricia E. Manual espinaca. Cajamarca de comercio bogota. Proyecto realizado por: Núcleo Ambiental S.A.S. Tipografía: Gill Sans. 2015. Disponible en: <https://bibliotecadigital.ccb.org.co/bitstream/handle/11520/14310/Espinaca.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
7. Ruiz G, Picó B, Rosich G y Morales L. El factor alimentario en la presencia de la deficiencia de hierro. *Revista Cubana de Medicina General e Integral* 2002;18 (1):46-52.
8. Bello J. Calidad de vida, alimentos y salud humana: Fundamentos científicos. [En línea]. Ediciones Díaz de Santos. España. 2005 [acceso: 19 enero 2021]. Disponible en: <http://www.diazdesantos.es/ediciones>

9. Cabanillas J. Comparación del efecto antioxidante de las tres variedades de los frutos *Opuntia ficus-indica* “tuna”, en la provincia de Cajamarca. [Tesis de pregrado]. Perú- Cajamarca. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo. 2017 Disponible en: http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/61/discover?rpp=10&page=1&query=CUANTIFICACION&group_by=none&etal=0
10. Lazo D. Inoculación de las cianobacterias *Nostoc sphaericum* para la fertilidad de los suelos áridos en San Antonio de Chaclla de Jicamarca, 2018. [Tesis de pregrado]. Lima – Perú. Universidad Cesar Vallejo. 2018. Disponible en: https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/28088/LAZO_%20PD.pdf?sequence=1&isAllowed=y
11. García S. Efecto de la sustitución parcial de gnetina por harina de cushuro (*Nostoc commune vauch*) sobre las características nutricionales y físicas de gomitas comestibles a base de arándano (*Vaccinium myrtillus*). [Tesis de pregrado]. Trujillo – Perú. Universidad Cesar Vallejo. 2020. Disponible en: https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/40826/Garc%C3%ada_BSK.pdf?sequence=1&isAllowed=y
12. Chilón N, Tingal A. Cuantificación de hierro en los extractos de *beta vulgaris* “acelga” y *spinacia oleracea* “espinaca” para incentivar su consumo en la prevención de anemia. [Tesis de pregrado]. Cajamarca-Perú. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo. 2020. Disponible en: http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/61/discover?rpp=10&page=1&query=CUANTIFICACION&group_by=none&etal=0
13. Ponce E. *Nostoc*: un alimento diferente y su presencia en la precordillera de Arica. Marzo - Mayo, 2014. ISSN. Volumen 32, N° 2. Páginas 115-118 IDESIA (Chile) Marzo-Mayo, 2014 Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34292014000200015
14. Otari K et al. *Spinacia oleracea* L. A Pharmacognostic and Pharmacological overview. [En línea]. International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy. Department of Pharmacology. Review Article. India. 2010. [acceso: 30 enero 2021]. Disponible en: www.ijrap.net

15. Alayo M, Montoya E. Determinación de los fitoconstituyentes y nutrientes de las hojas de *Spinacia oleracea* L. “espinaca”, provenientes de las localidades de Santa Rosa y Pedregal de la provincia de Trujillo, noviembre 2012. [Tesis de pregrado]. Trujillo. Perú. Universidad Nacional de Trujillo 2013. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3805/Alayo%20Noasco%20Melissa%20Khateryne.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
16. Macha A. “Conocimiento y aceptabilidad de platos a base de *Nostoc* “cushuro” como alternativa alimentaria en agentes comunitarios de salud en el distrito de Pueblo Libre, 2018” [Tesis de pregrado]. Lima – Perú. Universidad Federico Villareal. 2019
17. Rojas R. Cultivo de Espinaca. [En línea]. Universidad Nacional Uhermilio Valdizán. Facultad de Ciencias Agrarias. Ingeniería Agroindustrial. Huánuco, Perú. 2011.[acceso: 25 enero 2021. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/79270978/ESPINACA>
18. Pita G, Basabe B, Jiménez S. La anemia. Aspectos nutricionales. Conceptos actualizados para su prevención y control. 2007. Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/hematologia/anemia_para_profesionales_de_la_salud_aps_2009.pdf
19. Cabanillas J. Comparación del efecto antioxidante de las tres variedades de los frutos *Opuntia ficus-indica* “tuna”, en la provincia de Cajamarca. [Tesis de pregrado]. Perú- Cajamarca. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrel. 2017 Disponible en: http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/61/discover?rpp=10&page=1&query=CUANTIFICACION&group_by=none&etal=0
20. Silva Y, Mercado J. Cuantificación de hierro total en las hojas de espinaca (*Basella alba*) por espectrofotometría ultravioleta / visible, laboratorio de análisis físico químico de alimentos departamento de química, UNAN - Managua, enero – diciembre, 2015. [Tesis pre grado]. Managua, junio del 2016. disponible en: <https://repositorio.unan.edu.ni/1395/1/75006.pdf>

21. Víctor J. Elaboración y control de calidad de pan enriquecido con fibra de cutícula de tomate (*Solanum lycopersicum*) y espinaca (*Spinacia oleracea*) [Tesis de bioquímico farmacéutico]. Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador; 2014. [Consultado el 20 de agosto del 2021]. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/.../9387e688e8ae00d2f267425a1d2dcfb eb>
22. Villavicencio M, Alvarez, et al. Efectos nutritivos del *nostoc* (cushuro) en los niños desnutridos de 1a 3 años del distrito de amarills. 2007 Disponible en: <http://repebis.upch.edu.pe/articulos/invest.valdiz/v3n1/a2.º>
23. Martínez C, Ros G, Periago J y López G. Biodisponibilidad del hierro en los alimentos. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 1999;49 (2):106-113.
24. López Y Silva, García J. Cuantificación de hierro total en las hojas de espinaca (*basella alba*) por espectrofotometría ultravioleta/visible, enero-diciembre, 2015. [Tesis de pregrado]. Managua. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. 2016 disponible en: <https://repositorio.unan.edu.ni/1395/1/75006.pdf>

ANEXOS

ANEXO A: Instrumentos de recolección de datos.

| | Soluciones de cada muestra (ml) | Uv/vis (nm) | Absorbancia (nm) | | Concentración de hierro encontrado mg/L | |
|---|---------------------------------|-------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---|---------|
| | | | Cushuro | Espinaca | Espinaca | Cushuro |
| Extracto acuoso de la espinaca | 150 ml | 510 | | M1= 1.106 M2= 1.102 M3= 1.108 | 5.614 | 9.529 |
| Extracto etanólico del cushuro | 150 ml | 510 | M1= 1.873 M2= 1.882 M3= 1.889 | | | |
| Solución estándar primaria de hierro 1000 ppm | 0.2 | 510 | | M1= 0.035 | | |
| | 0.4 | | | M2= 0.068 | | |
| | 0.6 | | | M3= 0.115 | | |
| | 0.8 | | | M4=0.156 | | |
| | 1.0 | | | M5= 0.185 | | |
| | 1.2 | | | M6= 0.226 | | |
| | 1.4 | | | M7= 0.266 | | |

ANEXO B: Matriz de consistencia

| FORMULACIÓN DEL PROBLEMA | OBJETIVOS | HIPÓTESIS |
|---|--|---|
| Problema general | Objetivo general | Hipótesis general |
| ¿Será posible cuantificar el hierro soluble en el extracto etanólico de <i>Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault</i> “cushuro” y del extracto acuoso de <i>Spinacia oleracea L</i> (“espinaca”)? | Cuantificar la concentración de hierro soluble en el extracto etanólico de <i>Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault</i> “cushuro” y en el extracto acuoso de <i>Spinacia oleracea L</i> “espinaca”? | Se logra cuantificar el hierro soluble en el extracto etanólico de <i>Nostoc Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault</i> “cushuro” y en el extracto acuoso de <i>Spinacia oleracea L</i> “espinaca”? |
| Problemas específicos | Objetivos específicos | Hipótesis específicas |
| ¿Cuál es la concentración de hierro soluble en el extracto <i>Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault</i> “cushuro” | Cuantificar el hierro soluble presente en <i>Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault</i> “cushuro” y en <i>Spinacia oleracea L</i> “espinaca”, utilizando la espectrofotometría y el método colorimétrico de la orto-fenantrolina el cual obedece a la ley de Lambert y Beer. | Se logra cuantificar la concentración de hierro soluble en el extracto etanólico de <i>Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault</i> “cushuro” |
| ¿Cuál es la concentración de hierro soluble en el extracto acuoso de <i>Spinacia oleracea L</i> “espinaca”? | Comparar las concentraciones de hierro soluble de <i>Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault</i> “cushuro” y <i>Spinacia oleracea L</i> “espinaca”? | ¿Se logra cuantificar la concentración de hierro en el extracto acuoso de <i>Spinacia oleracea L</i> “espinaca”? |

ANEXO C: Operacionalización de las variables.

| VARIABLES | DEFINICIÓN CONCEPTUAL | DEFINICIÓN OPERACIONAL | DIMENSIONES | INDICADORES | ESCALA DE MEDICIÓN | Nº DE ÍTE MS | VALOR |
|---|--|---|------------------------------|--|---|---------------|--|
| <p>Independiente</p> <p>Cuantificación de hierro soluble</p> | <p>El hierro se considera, por tanto, un elemento fundamental en el desarrollo del niño, con el fin de que todas sus capacidades se desarrollen sin ningún tipo de problema.</p> | <p>Espectrofotometría</p> | <p>método físico químico</p> | <p>Absorbancia</p> <p>Viraje</p> | <p>510 nanómetros</p> | <p>10</p> | <p>Niños 6 m=11.5 g/dl</p> <p>Niños 12 m=11.7 g/dl</p> <p>Niños 1-2 años =12 g/dl</p> <p>Niños 2-6 años =12.5 g/dl</p> <p>Niños 6-12 años =13.5 g/dl</p> <p>Niños 12-18 años =14 g/dl</p> <p>Niños 12-18 años =14 g/dl</p> |
| <p>Dependiente</p> <p>Extracto etanólico de <i>Nostoc sphaericum vaucher ex Bornet & Flahault</i> "cushuro" y extracto de <i>Spinacia oleracea</i> L "espinaca"?</p> | <p>Nostoc tipo de alga muy frecuente en lagos, lagunas de la sierra con propiedades medicinales.</p> <p>La espinaca es un vegetal rico en hierro, vitaminas y minerales.</p> | <p>Concentración del extracto etanólico</p> | <p>Maceración</p> | <p>Formación del complejo ferroína</p> | <p>2 kg de <i>Nostoc sphaericum vaucher ex Bornet & Flahault</i> "espinaca" y 2 Kg de <i>Spinacia oleracea</i> L "espinaca"</p> | <p>500 ml</p> | <p>concentración de hierro en el extracto etanólico de "cushuro" es de 15.72 ± 2.07 mg/100g² y la concentración de hierro en el extracto acuoso de "espinaca" oscila entre 6.05 a 7,2 mg Fe /100g⁵</p> |

ANEXO D: clasificación taxonómica.



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO - CBP N° 3796 – INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA.

Que, las Bachilleres JANET TARRILLO DELGADO y GUTIERREZ RONCAL DORIS MARIELA. Tesistas de la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación han solicitado la identificación y certificación botánica de algas verde-azuladas que forman colonias esféricas conocidas con el nombre vulgar de “cushuro”, provenientes de los alrededores de la laguna San Nicolás del departamento de Cajamarca, las muestras han sido identificada como: *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault. Según el Sistema de Clasificación de M. D. Guiry 2017 (Algae Base) se ubica en las siguientes categorías taxonómica:

Reino: Monera

Phyllum: Cyanobacteria

Clase: Cyanophyceae

Subclase: Nostocophycidae

Orden: Nostocales

Familia: Nostocaceae

Género: Nostoc

Especie: *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault

Nombre vulgar: “Cushuro”, “nostoc”

Se expide la presente certificación con fines de investigación científica.

Lima, 31 de agosto del 2021



José R. Campos De La Cruz
José R. Campos De La Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796

JR. SANCHEZ SILVA N° 156- piso 2. Urb. Santa Luzmila. Lima 07
Emailjocamde@gmail.com; joricampos@yahoo.es

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ

CONSULTOR BOTÁNICO

Email: jocandell@gmail.com

Cel: 982280079 - Urb. Santa Luzmila,



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ, BIÓLOGO COLEGIADO - C.B.P. N° 3796 - INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXINÓMICA DE ESPECIMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0211-2013-MINAGRI-DGFFS-BGFFS.

CERTIFICA.

Que, las Bachilleres JANET TARRILLO DELGADO y GUTIERREZ RONCAL DORIS MARIELA, Tesisistas de la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta cultivada en el distrito de Jesús del departamento de Cajamarca donde es conocida con el nombre vulgar de "espinaca", la muestra ha sido identificada como: *Spinacia oleracea* L. Según la base de Tropicos que sigue el Sistema de clasificación de los grupos de filogenia de las angiospermas (APG), publicado en 1998, revisado por APG II (2003), APG III (2009) y APG IV (2016), este Sistema de clasificación considera a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida (Chasse, Mw y J. Reavel, 2009), se ubica en las siguientes categorías taxonómicas:

Reino: Plantae
División: Angiospermae
Clase: Equisetopsida
Subclase: Magnoliidae
Superorden: Caryophyllanae
Orden: Caryophyllales
Familia: Amaranthaceae
Género: Spinacia
Especie: *Spinacia oleracea* L.

Nombre vulgar: "espinaca"

Se expide la presente certificación con fines de investigación científica.

Lima, 31 de agosto del 2021



DR. SANCHEZ SILVA N° 116- pta 2, Urb. Santa Luzmila, Lima 07
Email: jocandell@gmail.com; joricampost@ yahoo.es

INFORME DE ENSAYO N°01141021

Emitido en Lima, el 14 de Octubre del 2021.

| | |
|------------------------------------|--|
| Orden de Trabajo | 01260921 |
| Numero de Servicio | 077-21 |
| Nombre del Solicitante | Yanet Tarrillo y Doris Roncal |
| Servicio Solicitado | Cuantificación de Hierro Total en Espinaca y Cushuro |
| Producto Declarado | (7) Muestras de Producto deshidratado de Espinaca y (7) Muestras de producto deshidratado de alga Cushuro. |
| Método de Ensayo | Espectrofotometría |
| Estándar Usado | Sulfato de hierro (II) amónico hexahidratado Sigma Aldrich (203505-100G) |
| Presentación | Envasado |
| Fecha de Inicio de Ensayos | 29 de Septiembre |
| Fecha de Terminó de Ensayos | 14 de Octubre |

RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE HIERRO EN CUSHURO Y ESPINACA

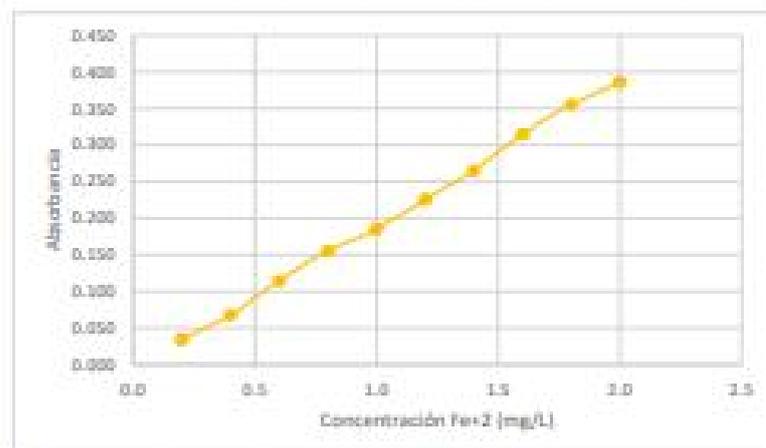


Gráfico 1. Curva de calibración concentración de hierro (mg/L) vs Absorbancia

Tabla 1. Datos de la curva de calibración

| Concentración (mg/L) | Absorbancia 1 | Absorbancia 2 | Absorbancia 3 | Absorbancia promedio |
|----------------------------|---------------|------------------------|---------------|----------------------|
| 0.2 | 0.034 | 0.037 | 0.033 | 0.035 |
| 0.4 | 0.067 | 0.075 | 0.062 | 0.068 |
| 0.6 | 0.113 | 0.117 | 0.115 | 0.115 |
| 0.8 | 0.158 | 0.152 | 0.157 | 0.156 |
| 1.0 | 0.181 | 0.186 | 0.189 | 0.185 |
| 1.2 | 0.226 | 0.223 | 0.228 | 0.226 |
| 1.4 | 0.267 | 0.269 | 0.261 | 0.266 |
| Ecuación de la recta | | $Y = 0.1982X - 0.0074$ | | |
| Coeficiente de correlación | | 0.998365 | | |

Tabla 2. Absorbancias corregidas restadas de blanco de muestra

| Descripción | Resultados |
|---------------|---|
| M1 (cushuro) | Absorbancias corregidas restadas de blanco de muestra: (1.873; 1.882); (1.889) |
| M1 (espinaca) | Absorbancias corregidas restadas de blanco de muestra: (1.106); (1.102); (1.108) |

Tabla 3. Resultados de la muestra CUSHURO

| Descripción | Resultados |
|---|---------------------|
| Concentración de Hierro (mg/L) | 9.529447 ± 0.040468 |
| Concentración de Hierro (mg/100 g cushuro) * | 5.717668 |

*Cushuro (25g/150 mL)

Tabla 4. Resultados de la muestra ESPINACA

| Descripción | Resultados |
|--------------------------------|---------------------|
| Concentración de Hierro (mg/L) | 5.614249 ± 0.015414 |



Nota: Los ensayos se han realizado bajo responsabilidad de CORPORACIÓN ATIPAQ PERÚ MQS SAC. Los resultados corresponden solo a la(s) muestra(s) del protocolo o lote ensayado(s) no pudiendo extenderse los resultados del informe a ninguna otra unidad o lote que no haya sido analizado.

ANEXO E: Evidencias fotográficas del trabajo de campo.

A: Proceso de recolección y preparación de la muestra de *Nostoc sphaericum vaucher ex Bornet & Flahault* "Cushuro"



IMAGEN 1 Recoleccion de la muestra alrededor de la laguna san Nicolas en el distrito de Namora.



IMAGEN 2. Las muestras de *Nostoc sphaericum* se seleccionaron, separando las sustancias extrañas



IMAGEN 3. se lavó con agua potable, seguido de ello se desinfecto con hipoclorito de sodio a una concentración 0,05%" durante 1 minuto". "Posteriormente se enjuago con bastante agua destilada estéril.



IMAGEN 4.

se llevó a secar en la estufa a 40 °C luego Se trituraron las muestras secas en un mortero.



B: Proceso de recolección y preparación de la muestra de *Spinacia oleracea* L “espinaca”.



IMAGEN 1. recolección de las plantas de *Spinacia oleracea* “espinaca”.



IMAGEN 2. se seleccionó las hojas *Spinacia oleracea* “espinaca”.



IMAGEN 3. Lavado con agua potable, desinfección utilizando hipoclorito de sodio a una concentración 0,05% durante 1 minuto”. “Posteriormente se enjuaga con bastante agua destilada



IMAGEN 4: se colocó las hojas en un lugar bajo sombra y con suficiente ventilación. “Posteriormente se secó totalmente la muestra en estufa a 40°C por 12 h.